

3. Berger W., Barr L. Use of rubber membranes to improve sucrose-gap and other electrical recording techniques.— J. Appl. Physiol., 1969, 26, N 3, p. 378—382.
4. Walsh R. R., Deals S. E. Reversible conduction produced by lipid insoluble quaternary ammonium ions in acetyltrimethylammonium bromide treated nerve.— Amer. J. Physiol., 1957, 197, N 5, p. 547—550.
5. Walsh R. R., Lee J. P. Action of surface-active agents on axonal conduction.— Amer. J. Physiol., 1962, 202, N 12, p. 1241—1243.

Кафедра биофизики Киевского университета;
Киевский институт общей и коммунальной гигиены

Поступила в редакцию
15.XII 1980 г.

УДК 612.338:612.014.423

В. Д. Щербина, А. Н. Бражников, Э. И. Сливко

ДЕЙСТВИЕ МЕДИАТОРОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ЛЯГУШКИ

Вегетативная нервная система оказывает многообразное и сложное влияние на физиологические процессы, протекающие в слизистой оболочке тонкого кишечника. Медиаторы вегетативной нервной системы влияют на транспорт электролитов и других веществ в слизистой, а также на ее суммарную биоэлектрическую активность [2, 4, 7, 8, 13].

Мы исследовали действие норадреналина и ацетилхолина на мембранный потенциал энтероцитов.

Методика исследований

Опыты проведены на вывернутых мешочках, приготовленных из начальной части тонкого кишечника лягушки. Препараты помещали в ванночку, заполненную раствором Рингера. Мембранный потенциал эпителиальных клеток слизистой измеряли с помощью стеклянных внутриклеточных микроэлектродов, заполненных 2,5 М раствором хлористого калия, с сопротивлением 10—20 МОм. Исследовали величину потенциала апикальной и базальной мембран энтероцитов. Для усиления и регистрации потенциалов использовали катодный повторитель, усилитель постоянного тока и самопишущий потенциометр. В каждом из опытов производили измерение мембранного потенциала 12—15 клеток до и после добавления к раствору Рингера исследуемых веществ. Методика экспериментов более подробно описана нами ранее [1].

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты опытов подтвердили полученные ранее данные [1], согласно которым потенциалы базальной и апикальной мембран энтероцитов лягушки не обнаруживают существенных различий в состоянии покоя. Норадреналин оказал значительное влияние на мембранный потенциал эпителиальных клеток кишечника. После добавления его к раствору Рингера в концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ моль были обнаружены изменения величины потенциалов как апикальной, так и базальной мембран. Полученные данные показали, что норадреналин вызывает деполяризацию апикальной мембраны. Величина ее потенциала уменьшилась в среднем на 12 % по сравнению с исходной. В то же время базальная мембрана энтероцитов подверглась гиперполяризации. Ее потенциал увеличился на 19 %. Сдвиги потенциала апикальной и базальной мембран в условиях действия норадреналина отражены в табл. 1.

Дальнейшие эксперименты были посвящены изучению механизма влияния норадреналина на мембранный потенциал энтероцитов. Как известно, процессы активного и пассивного транспорта ионов отличаются в этих клетках по своей локализации. Апикальная мембрана энтероцитов способна лишь к пассивному транспорту ионов, в то время как базальная осуществляет также их активный транспорт (см. обзор [12]).

Ранее было показано [7, 8], что норадреналин усиливает поток ионов натрия, направленный от мукозной оболочки кишечника к серозной. Это позволило выдвинуть предположение о том, что норадреналин приводит к деполяризации апикальной мембра-

Действие медиаторов

Влияние норадреналина

Объект исследования

Потенциал апикальной мембраны

Потенциал базальной мембраны

ны, вызывая усиление. Экспериментальная работа была проведена на лягушке. Раствор был составлен из тех же веществ, что и в предыдущем опыте. Натрия, который был добавлен, был в виде Трис (оксиметиламина). Раствор был добавлен к мембране энтероцитов. Введение в раствор апикальной мембраны под влиянием норадреналина происходит тем, что потенциал уменьшается к ионам натрия.

Замена ионов натрия на ионы калия. Действие норадреналина на мембранный потенциал энтероцитов. Замена норадреналина на ацетилхолин.

При исследовании энтероцитов последняя добавляла в раствор кишечника. Действие солей натрия и калия. Натрий-калиевый насос.

После действия описанных веществ мембрана составила 18,6 мВ. Влияние норадреналина на мембранный потенциал энтероцитов.

Мембранный потенциал энтероцитов. Влияние ацетилхолина на мембранный потенциал энтероцитов. Влияние ацетилхолина на мембранный потенциал энтероцитов.

Влияние ацетилхолина

Объект исследования

Потенциал апикальной мембраны

Потенциал базальной мембраны

Потенциал базальной мембраны

Таблица 1
Влияние норадреналина на мембранный потенциал энтероцитов лягушки

Объект исследования	Исходное состояние		Действие норадреналина	
	Количество клеток	Величина мембранного потенциала, мВ	Количество клеток	Величина мембранного потенциала, мВ
Потенциал апикальной мембраны	52	$19,6 \pm 0,6$	99	$17,2 \pm 0,4$ $p < 0,01$
Потенциал базальной мембраны	79	$19,1 \pm 0,4$	87	$22,8 \pm 0,5$ $p < 0,001$

ны, вызывая усиление поступления ионов натрия внутрь энтероцитов. Для его проверки была проведена серия опытов, в которых раствор, заполняющий ванночку, был составлен из тех же компонентов, что и раствор Рингера, за исключением хлористого натрия, который был заменен соответствующим количеством Трис-хлорида. Катионы Трис (оксиметиламино-метан), в отличие от ионов натрия, неспособны проникать через мембрану энтероцитов.

Введение в раствор ионов Трис вместо натрия привело к тому, что потенциал апикальной мембраны увеличился до $29,8 \pm 0,8$ мВ. Гиперполяризация апикальной мембраны под влиянием Трис соответствует более ранним данным [5, 11] и объясняется тем, что потенциал этой мембраны определяется в значительной степени ее проницаемостью к ионам натрия.

Замена ионов натрия в растворе привела также к резкому изменению характера действия норадреналина на мембранный потенциал энтероцитов. После добавления норадреналина к раствору в указанной концентрации произошла гиперполяризация апикальной мембраны. Ее потенциал увеличился до $34,6 \pm 1,0$ мВ ($p < 0,001$).

При исследовании механизма действия норадреналина на базальную мембрану энтероцитов последняя была предварительно подвергнута действию оубаина. Его добавляли в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ моль к раствору, омывающему серозную оболочку кишки. Действуя со стороны серозной оболочки, оубаин блокирует электрогенный натрий-калиевый насос, расположенный в базальной мембране [10].

После действия оубаина в течение одного часа величина потенциала базальной мембраны составила $18,4 \pm 0,3$ мВ. Таким образом, оубаин сам по себе не привел к существенному сдвигу мембранного потенциала энтероцитов. В то же время он устранил влияние норадреналина на потенциал базальной мембраны. Величина его после добавления к раствору норадреналина составила в этой серии опытов $18,5 \pm 0,8$ мВ.

Мембранный потенциал энтероцитов был исследован также в условиях действия на препарат ацетилхолина, который добавляли к раствору Рингера в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-6}$ моль. Для того чтобы предотвратить разрушение ацетилхолина холинэстеразой ткани, к раствору добавляли также прозерин в концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ моль.

Таблица 2
Влияние ацетилхолина на мембранный потенциал энтероцитов лягушки

Объект исследования	Концентрация ацетилхолина, моль	Исходное состояние		Действие ацетилхолина	
		Количество клеток	Величина мембранного потенциала, мВ	Количество клеток	Величина мембранного потенциала, мВ
Потенциал апикальной мембраны	$5 \cdot 10^{-6}$	75	$19,0 \pm 0,3$	118	$19,1 \pm 0,3$ $p > 0,5$
Потенциал базальной мембраны	$5 \cdot 10^{-6}$	88	$19,1 \pm 0,3$	102	$18,7 \pm 0,3$ $p > 0,2$
Потенциал базальной мембраны	$5 \cdot 10^{-7}$	145	$20,3 \pm 0,3$	147	$20,0 \pm 0,3$ $p > 0,2$

В результате проведенных опытов не удалось обнаружить статистически значимого влияния ацетилхолина на величину потенциала как апикальной, так и базальной мембран энтероцитов. Полученные данные отражены в табл. 2.

Результаты опытов оставляют открытым вопрос о влиянии ацетилхолина на процессы транспорта веществ в слизистой оболочке тонкого кишечника. Возможно, его действие проявляется главным образом посредством активации гладкой мускулатуры или изменения кровотока в кишке.

В то же время полученные данные указывают, что эффект норадреналина реализуется на уровне мембраны энтероцитов. Зависимость этого эффекта от действия адреналина говорит о том, что норадреналин влияет на процессы активного транспорта ионов. Усиление деятельности электрогенного натрий-калиевого насоса, расположенного в базальной мембране энтероцитов, приводит к ее гиперполяризации. Подобное действие норадреналина напоминает его влияние на активный транспорт ионов в коже лягушки [6, 9].

Усиленное выведение ионов натрия через базальную мембрану сочетается с более интенсивным поступлением их внутрь эпителиальных клеток из просвета кишки. Об этом свидетельствует деполяризация апикальной мембраны энтероцитов, которая возникает под влиянием норадреналина. Замена ионов натрия в окружающей среде другими ионами, плохо диффундирующими через мембрану, устраняет этот эффект и превращает его в гиперполяризующий. Возможно, это объясняется изменением направления градиента ионов натрия в данных условиях. Не исключено, что норадреналин повышает также проницаемость апикальной мембраны к ионам хлора. Изменения состояния мембраны эпителиальных клеток под влиянием норадреналина лежат, очевидно, в основе того действия, которое он оказывает на всасывание электролитов в желудочно-кишечном тракте [3, 4, 8].

Список литературы

1. Бражников А. Н., Сливко Э. И., Щербина В. Д. Гиперполяризация эпителиальных клеток тонкого кишечника лягушки, вызванная действием секретина и пентагастрина.— Физиол. журн., 1979, 25, № 2, с. 208—210.
2. Файтельберг Р. О. Всасывание в желудочно-кишечном тракте. М.: Медицина, 1976. 264 с.
3. Яременко М. С., Бутусова И. А., Прокопенко О. Н., Харламова О. Н. Влияние норадреналина на перенос ионов и воды через эпителий желчного пузыря лягушки.— Физиол. журн. СССР, 1979, 65, № 3, с. 421—429.
4. Auselbrook K. A. Intestinal absorption of glucose and sodium: Effects of epinephrine and norepinephrine.— Biochem. and Biophys. Res. Com., 1965, 18, N 2, p. 165—169.
5. Barry R. J. C., Eggenton J. Ionic basis of membrane potentials of epithelial cells in rat small intestine.— J. Physiol., 1972, 227, N 1, p. 217—231.
6. Bastide F., Jard S. Actions de la noradrenaline et de l'ocytocine sur le transport actif de sodium et la permeabilite a l'eau de la peau de grenouille. Role du 3',5'-AMP cyclique.— Biochim. et biophys. acta, 1968, 150, N 1, p. 113—123.
7. Dietz J., Field M. Ion transport in rabbit ileum mucosa. IV. Bicarbonate secretion.— Amer. J. Physiol., 1973, 225, N 4, p. 858—861.
8. Field M., McColl I. Ion transport in rabbit ileum mucosa. III. Effects of catecholamines.— Amer. J. Physiol., 1973, 225, N 4, p. 852—857.
9. Gonzalez C., Sanchez J., Concha J. Changes in potential difference and short-circuit current produced by electrical stimulation in a nerve-skin preparation of the toad.— Biochim. et biophys. acta, 1966, 120, N 1, p. 186—188.
10. Okada Y., Irimajiri A., Tsuchiya W., Inouye A. Contribution of an electrogenic sodium pump to the membrane potential in the intestinal epithelial cell.— Jap. J. Physiol., 1978, 28, N 4, p. 511—525.
11. Rose R. C., Schultz S. G. Studies on the electrical potential profile across rabbit ileum. Effect of sugars and amino acids on transmural and transmucosal electrical potential differences.— J. Gen. Physiol., 1971, 57, N 4, p. 639—663.
12. Schultz S. G., Curran P. F. Coupled transport of sodium and organic solutes.— Physiol. Rev., 1970, 50, N 4, p. 637—718.
13. Turnberg L. A., Isaacs P. E. T., Corbett C. L., Riley A. K. In vitro behaviour of human jejunum and ileum: response to theophylline and acetylcholine.— In: Intestinal ion transport. Baltimore: Univ. park press, 1976, p. 339—344.

Запорожский
медицинский институт

Поступила в редакцию
25.VII 1980 г.

ВЛИЯНИЕ ПОКОЯ КЛЕТО

Многие факты
ния в нервно-мышеч
ракообразных [11]
и действие глутамин
браны [5]. Обнаруж
новой кислоты сверх
[9] и мышц креветки
вающие L-глутамино
В литературе не
торных клеток слюны
личия могла бы слу
кислоте.

Мы исследовали
слюнной железы личи

Опыты проведен
которых характерен п
лагаются по краям же
дина желез занята с
слоем протоплазмы [3
сторона которых дости
Отпрепарированн
ным раствором Шена [1
Отведение потенциала
10—30 МОм, заполненн
дов не превышал —7 м
лем с помощью микро
КСП-4 с катодным повт
лись на ЭВМ СМ-4 [1].

Резу.

Крупные размеры
какой-либо из них. Изм
непосредственно после
до —70,32 мВ. Средняя
±1,01 мВ (при $\delta=11,93$
ли нам способом хи-квад
ление величины ПП с т
 $\chi^2=5,02$, что лишь на 0,9

Изменения потенциала п
новой кислоты (ГЛ) и с
с вероятностью 0,95 можн
ПП. Найденные нами ко
($A=0,618$) свидетельству
пределения.

ПП клеток многих ж
кие значения, чем в ходе
личение ПП в течение 15—